

**CONTRIBUTION A L'ETUDE
DES PROFILS HEMATOLOGIQUES
ET BIOCHIMIQUES DU LIEVRE**

(Lepus europaeus)

THESE

PRESENTEE

A L'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
(Médecine - Pharmacie)

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 10 MARS 1977

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VETERINAIRE

par

MALIK OUABDESSELAM

**CONTRIBUTION A L'ETUDE
DES PROFILS HEMATOLOGIQUES
ET BIOCHIMIQUES DU LIEVRE**

(*Lepus europaeus*)

THESE

PRESENTEE

A L'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
(Médecine - Pharmacie)

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 10 MARS 1977

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VETERINAIRE

par

MALIK OUABDESSELAM



PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ECOLE NATIONALE

VETERINAIRE DE LYON

Directeur : Monsieur le Professeur FROGET.

Directeurs Honoraires : Messieurs les Professeurs JUNG,
TAPERNOUX, FLORIO.

P R O F E S S E U R S

1° Pharmacie et Toxicologie	M. LORGUE
2° Anatomie descriptive - Extérieur - Anato- mie appliquée	M. BARONE
3° Physiologie - Thérapeutique - Pharmaco- dynamie	M. BOST
4° Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique	M. LUCAM
5° Hygiène et Industrie des aliments d'origine animale	M. FLACHAT
6° Parasitologie et Maladies parasitaires . .	M. EUZEBY
7° Pathologie médicale des équidés et des car- nivores - Législation vétérinaire	M. FONTAINE
8° Pathologie médicale du bétail et des ani- maux de basse-cour	M. COTTEREAU
9° Technique Chirurgicale - Pathologie Chirurgicale	M. COULON
10° Obstétrique - Pathologie de la Reproduction	M. BERTRAND
11° Pathologie générale - Microbiologie - Immunologie	M. OUDAR
12° Ethnologie - Zootechnie - Economie rurale	M. FROGET
13° Botanique appliquée - Agronomie - Alimentation	M. WOLTER
14° Physique et Chimie biologiques et médicales	M. MAGAT
15° Maladies contagieuses - Zoonoses - Législation sanitaire	M. JOUBERT

P R O F E S S E U R S S A N S C H A I R E

M. FERNEY (Détaché à l'Institut de Médecine et Sciences
Vétérinaires de DAKAR).
MM. CHANTEGRELET, DELATOUR, DESCHANEL, JEAN-BLAIN, LAPRAS,
LE NIHOUANNEN.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554215_0005

M A I T R E S D E C O N F E R E N C E

MM. BOIVIN, GASTELLU, MOUTHON.

M A I T R E S - A S S I S T A N T S

Mme CHAUVE, MM. FARGES, FAU, FRANCK, GARNIER, GEVREY, GOUY,
KECK, LABE, Mle LAVAL, MM. LEGEAY, PAYAN,
PRAVE, Mme RACHAIL, M. RICHARD.

A S S I S T A N T S

MM. BASSIER, BELLI, BILLIONNET, CHEVRIER, DEGUELLE, EUZEBY,
GOSSE, HARS, TIANO, VILLON.

E X A M I N A T E U R S D E L A T H E S E

Président : M. le Professeur BERTOYE de la Faculté de
Médecine.

Premier Assesseur : M. le Professeur LAPRAS de l'Ecole
Nationale Vétérinaire.

Deuxième Assesseur : M. le Professeur OUDAR de l'Ecole
Nationale Vétérinaire.

L'Université Claude Bernard (Médecine-Pharmacie) de LYON
et l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON, déclarent que
les opinions émises dans les dissertations qui leur sont
présentées, doivent être considérées comme propres à leurs
auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation
ni improbation.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BERTOYE

qui nous a fait le grand honneur de
présider notre jury de thèse.

Hommage très respectueux.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LAPRAS

Guide attentif et continuel de notre travail et à qui nous devons d'avoir traité ce sujet.

Nous le remercions de nous avoir fait l'honneur d'accepter d'être membre de notre jury de thèse.

Nous lui exprimons notre vive reconnaissance et notre profond respect.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR OUDAR

Nous sommes heureux de lui exprimer notre reconnaissance pour nous avoir donné le goût des études bactériologiques et pour nous avoir prodigué de nombreux conseils pour affronter la vie professionnelle.

Qu'il trouve ici le témoignage de notre gratitude, et nos sincères remerciements pour avoir bien voulu faire partie de notre jury.

Nous tenons à témoigner notre reconnaissance :

à Monsieur le Maître de Conférences GASTELLU

pour nous avoir gentiment éclairé
dans nos observations microscopiques.

à Monsieur le Maître de Conférences MOUTHON

dont l'aide et les conseils nous
ont été précieux.

à Monsieur le Maître-Assistant RICHARD

pour son soutien dès les premiers
pas de cette étude et ses encourage-
ments renouvelés.

Nous remercions également :

Marie-José SAYN

dont la collaboration technique a
grandement facilité l'élaboration
de ce travail.

Tout le personnel des laboratoires de Microbiologie,
de Maladies Contagieuses et de Pathologie
Médicale.

Ce travail a pu être réalisé grâce à un
contrat de recherches entre l'Ecole Nationale Vétérinaire
et l'Office National de la Chasse que nous tenons à
remercier tout particulièrement.

A TOUS CEUX QUE J'AIME . . .

I N T R O D U C T I O N

Le lièvre commun, *Lepus europaeus*, autrefois abondamment répandu en France, est une espèce de gibier actuellement en voie de disparition.

Le remembrement, la création des grandes surfaces de culture, la mécanisation et l'emploi de pesticides en agriculture, apparaissent largement responsables de cette situation. Toutefois, la présence d'une forte densité de lièvres dans le bassin parisien où l'homme chasse peu, laisse à penser que le nombre sans cesse croissant des chasseurs est la principale cause de cette raréfaction.

Du fait de cette diminution de gibier, la demande en lièvres de repeuplement ou de tir, par les sociétés de chasse, se fait de plus en plus importante. Pour satisfaire cette demande, on a recours à l'importation d'animaux capturés en Europe de l'Est. Mais cette importation se solde souvent par la mort des animaux pendant le voyage ou peu après le lâcher du fait des très mauvaises conditions de transport des lièvres et de leur aptitude toute particulière aux stress divers.

Afin de limiter ces échecs, il conviendrait d'approfondir les connaissances actuelles sur le lièvre, tant sur le plan biologique que physiologique.

C'est ainsi que notre travail portera sur l'étude des paramètres biologiques et hématologiques du lièvre, domaine jusque là mal connu, la littérature actuelle ne mentionnant aucune valeur des paramètres sanguins du lièvre normal.

Cette étude préliminaire devrait nous permettre de mieux expliquer la pathogénie de certains troubles ou maladies observés chez cette espèce et pourrait éventuellement constituer un outil appréciable pour le diagnostic expérimental de certaines affections.

Dans une première partie, nous nous limiterons à situer zoologiquement le lièvre dans la hiérarchie du monde animal et à étudier brièvement sa biologie.

La deuxième partie sera consacrée à l'exposé de notre protocole d'étude.

Puis dans un troisième temps, nous discuterons les résultats obtenus et nous comparerons les données recueillies chez le lièvre avec les paramètres sanguins du lapin (genre *Oryctogalus*) fournis par la littérature.

Enfin, dans une quatrième partie, nous exposerons les résultats d'une recherche particulière concernant l'influence de divers phénomènes stressants sur la glycémie du lièvre et l'action compensatrice éventuelle des tranquillisants.

P r e m i è r e P a r t i e

G E N E R A L I T E S

C h a p i t r e p r e m i e r

SYSTEMATIQUE ET ANATOMIE DESCRIPTIVE DU LIEVRE

I - Caractères zoologiques.

Le lièvre commun (*Lepus europaeus*) est un mammifère onguiculé appartenant à :

* Super Ordre des GLIRES (3) :

Eutheriens de petite ou moyenne taille, le plus souvent semi-plantigrades ou plantigrades, les dernières phalanges étant armées de griffes.

La denture présente trois caractéristiques fondamentales :

- la présence d'incisives en nombre réduit, très puissantes, saillant hors de la bouche, sans racines différenciées, et à croissance continue ;
- l'absence de canines ;
- un grand diastème sépare les incisives et les dents jugales de structure extrêmement variée.

* Ordre des LABOMORPHES :

La dentition a conservé au maxillaire supérieur seulement une seconde paire d'incisives très réduites, accolées à la face postérieure des deux grandes incisives caractéristiques.

* Famille des LEPORIDES :

. Formule dentaire :

$$\begin{array}{cccc} \text{I} & \frac{2}{1} & \text{C} & \frac{0}{0} & \text{P} & \frac{0-3}{0-3} & \text{M} & \frac{2-3}{2-3} \end{array}$$

- . Cinq doigts aux membres antérieurs et quatre doigts aux membres postérieurs.
- . Des clavicules incomplètes.
- . Des bulles tympaniques creuses.

- . Des pattes postérieures allongées.
- . Des oreilles en cornet, longues et étroites.
- . Une queue courte, touffue et épanouie.

* Sous-famille des LEPORINES :

Comprenant les lièvres, les lapins européens (ORYCTOLAGUS) et américains (SYLVILAGUS).

* Genre LEPUS (12) :

Lièvres typiques avec grand développement des membres postérieurs, oreilles plus longues que la tête, faces palmaires et plantaires recouvertes de poils, palais court.

Le genre LEPUS est le plus répandu et le plus riche en espèces : les travaux récents d'ELLERMAN et COLE (1953) regroupent les 150 formes référables du genre Lepus en 15 espèces dont 10 d'entre elles appartiennent au sous-genre Lepus. Celles-ci diffèrent surtout par le poids et la taille des individus et varient selon les régions géographiques.

Seule nous intéressera l'espèce Lepus europaeus, lièvre commun ou lièvre d'Europe que l'on trouve en Europe occidentale, centrale, orientale et en Russie d'Europe.

II - Morphologie.

Le lièvre commun (genre Lepus) se rapproche par son allure de son cousin le lapin de garenne (genre Oryctolagus), mais il s'en distingue tout d'abord par la taille de son corps, de ses oreilles, de ses pattes, qui sont proportionnellement beaucoup plus allongés, et ensuite par sa démarche particulière (6).

Du point de vue musculaire, le lièvre est adapté à la course : nous pouvons remarquer une énorme différence de développement entre l'avant-train et l'arrière-train. En outre, juste en arrière des scapulum, apparaît la nette prééminence des muscles dorso-lombaires, se prolongeant de part et d'autre du rachis, jusqu'à l'insertion des muscles fessiers. Ceux-ci forment avec les ischio-tibiaux deux globes musculaires impressionnants par rapport à la taille réduite de cet animal. Ces masses muscu-

lares permettent la promptitude du déboulé du lièvre, toujours spectaculaire et surtout les possibilités d'endurance du lièvre pourchassé.

On remarque également, à l'intérieur de la cavité abdominale, que les muscles psoas présentent une longueur et une épaisseur exceptionnelle.

III - Mensurations.

Le poids du lièvre adulte varie, en fonction de l'âge, de 3 à 5 kg ; exceptionnellement des poids de 6 à 7 kg ont pu être observés.

Le poids moyen est de 3,750 kg pour les femelles, et de 3,300 kg pour les mâles, des recherches (FLUX, 1967 et LICLOWSKY, 1969) ayant montré que le poids des femelles était supérieur à celui des mâles.

Pour certains auteurs, le poids du lièvre varie suivant l'aire géographique : ceci expliquerait la plus grande taille des lièvres d'Europe centrale (PICLOWSKY, 1969).

IV - Pelage et mue.

La plasticité somatique du lièvre, influencée par le milieu extérieur, donne lieu à d'innombrables variations de la coloration du pelage, depuis la robe fauve cendrée des lièvres des latitudes tropicales jusqu'à la couleur foncée de ceux des forêts continentales. Nous remarquons d'ailleurs que les lièvres d'Europe centrale sont plus foncés que la plupart des lièvres originaires du territoire français.

La couleur du pelage ne subit pas de variations au cours de l'année.

Les variations accidentelles de la robe sont peu fréquentes mais existent (mélanisme, albinisme, leucisme) comme chez toutes les espèces animales, par suite de la présence, dans la formule chromosomique, d'un gène (récessif ou dominant).

La mue, chez le lièvre, est inapparente, si ce n'est le changement d'épaisseur et de longueur du poil. Il existe en fait deux mues annuelles, une à l'automne et l'autre au printemps (24).

C h a p i t r e D e u x i è m e

B I O L O G I E D U L I E V R E

I - Mode de vie du lièvre.

Dans des conditions normales, le lièvre est solitaire et ne quitte qu'à regret son territoire.

A l'arrêt, son arrière-train repose tout entier sur le sol : assis sur ses tarses, il peut, comme le lapin, "faire le chandelier" en position d'observation (6).

Suivant différents facteurs, le lièvre quitte plus ou moins tôt son gîte.

Tant que "l'intrus" ne s'est pas approché à plus de 3 m environ, l'animal reste immobile, plaqué contre le sol avec lequel son pelage le fait confondre. Sa fuite se caractérise par un bond prodigieux ; il "explose" littéralement (9) et s'éloigne en faisant des bonds. A la course, ses postérieurs viennent prendre appui en avant de ses antérieurs : c'est la position dite de kangourou qui laisse une empreinte caractéristique du lièvre (6).

Le lièvre a une grande endurance et sa vitesse est de l'ordre de 50 à 70 km/h.

Le lièvre possède des glandes pigmentaires qui débouchent sous le nez et servent au "marquage" (selon SCHAFFER et VON SCHUHMACKER). En se frottant les joues avec ses antérieurs, il active la sécrétion qui adhère aux poils des membres et dont il oint ensuite tout son corps.

Ses glandes annales, très fortement odorantes, marquent sous la forme d'un sceau le sol lorsque le lièvre s'assied. Cette marque odorante sera autant un point de repère pour lui-même et ses congénères qu'une indication (9) pour le chien de chasse par exemple.

L'odorat du lièvre, très fin et très développé, joue un grand rôle dans le choix de sa nourriture.

Ses oreilles sont de véritables cornets acoustiques. L'orifice en est soigneusement protégé de poils longs, orifice qui s'ouvre, se ferme et pivote à tous les vents et tous les échos.

L'ouïe, subtile et fragile, est l'instrument de précision qui, à l'abri de tout contact, enregistre, dicerne et régit une partie de ses actes. Pour prendre le vent et voir au loin, le lièvre se dresse sur ses postérieurs, "droit comme une quille". Il perçoit surtout les mouvements, son acuité visuelle étant faible.

La disposition de ses yeux (légèrement sur le côté) ne lui permet pas de distinguer au bout de la ligne droite qu'il parcourt (3). C'est au crépuscule qu'il voit le mieux, ses pupilles pouvant se contracter fortement.

Le répertoire vocal du lièvre est restreint : il exprime son angoisse par un "vagissement" (9). En outre, les lièvres émettent des grognements quand ils se battent, s'accouplent, ou avant d'allaiter.

II - La reproduction du lièvre.

La reproduction ou "bouquinage" a lieu pratiquement toute l'année sauf pendant les mois où les jours sont plus courts (octobre, novembre et décembre). La hase met au monde 2 à 5 levrauts, 4 fois par an. La gestation, qui dure 42 jours, peut être unilatérale ou bilatérale. La placentation est discoïde, du type hémo-endothéliale.

Il faut signaler qu'il existe chez la hase le phénomène de superfoetation qui permet à la hase d'être fécondée tout en étant gestante. Ce phénomène est possible car la hase n'a pas de cycle ovarien ; l'ovulation est induite par l'accouplement.

Contrairement au genre *Oryctolagus*, les levrauts, pesant environ 100 g, naissent couverts de poils abondants, les yeux ouverts et sont capables de se déplacer dès leurs premières heures de vie.

III - Biotope et territoire.

On trouve le lièvre dans toute l'Europe. Il cède sa place au lièvre variable seulement vers 2000 m d'altitude.

Le biotope idéal du lièvre est constitué de larges zones, parsemées de petites surfaces boisées alternant avec des superficies cultivées.

Chaque lièvre a son "territoire" dont l'étendue est d'environ 4 hectares. Dans ce territoire, on distingue un ou plusieurs gîtes et des coulées : le gîte est l'endroit où le lièvre a l'habitude de venir se reposer ; il se trouve le plus souvent à l'abri du vent. C'est une dépression dans le sol, aménagée par ses pattes antérieures, qui épouse la forme de son corps (23).

Les coulées sont les passages empruntés par les lièvres dans leurs déplacements nocturnes (le lièvre est un animal craintif qui ne se déplace que très peu durant la journée). En général, les lièvres ont coutume d'utiliser toujours les mêmes coulées.

C h a p i t r e T r o i s i è m e

E L E V A G E D U L I E V R E

Chaque année, les besoins en lièvres ne font qu'augmenter. Il est de ce fait urgent d'en "produire". D'où l'intérêt du lièvre d'élevage, moins rustique mais également moins dramatiquement sujet aux agressions, indemne d'infections et d'infestations majeures et donc apte à reconstituer un capital cynégétique actuellement très durement touché. Cependant, l'élevage français est encore au stade expérimental car beaucoup d'expérimentateurs se sont heurtés, après un semblant de réussite, à de grandes difficultés et beaucoup ont dû abandonner leurs recherches.

I - Conditions générales de l'élevage du lièvre commun.

1. La quiétude.

La principale difficulté provient du caractère "peureux" du lièvre. Dans la nature, le lièvre est en état d'alerte permanent. Il existe entre l'animal et l'homme un espace permanent que le lièvre maintient par la fuite lorsque l'homme se rapproche en deça d'une certaine distance. Cet espace est appelé "la distance de fuite".

En fait, l'homme n'est pas le seul ennemi du lièvre. Il y a aussi les autres espèces sauvages.

Tous les problèmes de concurrence pour l'habitat et la nourriture se posent, chez le lièvre, vis-à-vis du lapin de garenne devant lequel il bat en retraite.

Dans l'élevage, ces difficultés sont résolues bien que demeure le problème de la cohabitation sur une surface restreinte des individus du même sexe.

Dans un élevage, tous les facteurs qui déclenchent le réflexe de fuite chez l'animal doivent être abolis. Il faut éviter la venue de l'homme et les bruits divers. Il faut également diminuer le plus possible le nombre de manipulations. Celles-ci, quelquefois obligatoires, nécessitent un matériel approprié et une grande précision.

2. La nourriture.

L'alimentation doit être variée, verte en toute saison. Quelques aliments concentrés pourront compléter la ration.

3) L'état sanitaire.

C'est un sujet préoccupant tous les éleveurs. Le levraut est un animal très fragile et, pour lui assurer une bonne vigueur, il convient de respecter certaines normes d'hygiène.

L'éleveur se trouve confronté aux maladies parasitaires, importantes, qu'il peut limiter par l'emploi de grillage comme fond de cage. Mais les maladies infectieuses restent les plus inquiétantes et nécessitent l'emploi de mesures particulières : quarantaine des animaux arrivant, vaccination systématique.

II - Différents types d'élevage.

L'élevage au sol, en semi-liberté, après un début prometteur sur un sol sain, voit au bout de 2 ou 3 ans, la mortalité augmenter, en même temps que s'installe l'infestation du sol. Il se produit un autoparasitage direct par les oeufs de trichures et de trichostrongylidés présents dans les fécès, et indirect pour la dicrocoeliose, la fasciolose, la bronchite vermineuse et le toeniasis.

L'élevage en captivité étroite "sur parquet" est une excellente solution pour favoriser la diminution de l'autoparasitage. Le lièvre s'y reproduit bien. Le système est couteux, inconmode, et la manipulation des sujets difficile.

III - Conclusion.

Malgré les difficultés, le lièvre d'élevage sera, dans un proche avenir, la seule solution au repeuplement des chasses françaises. L'élevage permet d'obtenir la gestation et la mise-bas d'un certain nombre de levrauts. Tout le problème consiste à augmenter le nombre et l'importance des portées.

L'amélioration des techniques permet de penser qu'un jour les facteurs de mortalité embryonnaire seront diminués. L'insémination artificielle peut, d'autre part, mettre en évidence l'intérêt majeur de la superfoetation en raccourcissant à l'extrême l'intervalle des mises-bas pour obtenir un nombre plus élevé de gestations annuelles.

Mais l'essentiel n'est pas là. Il ne faut pas oublier que les sujets en captivité sont destinés à être relâchés dans la nature. La réussite de ce repeuplement se situe à deux niveaux : il faut d'abord que les lièvres gardent leur caractère sauvage et ensuite que les lâchers s'effectuent dans les meilleures conditions pour que l'animal puisse s'adapter à son nouveau milieu, y vivre et s'y reproduire.

C h a p i t r e Q u a t r i è m e

SITUATION CYNEGETIQUE DU LIEVRE EN FRANCE

PROBLEMES DE L'IMPORTATION DU LIEVRE

Si le problème de l'équilibre dynamique d'une population se pose, même lors de la protection totale de l'espèce, les difficultés sont accentuées lorsque la notion d'exploitation intervient. En effet, si le protectionniste se contente de supprimer les facteurs de régression et de maintenir la population en équilibre stable, le chasseur, au contraire, réclame toujours plus de gibier.

Aujourd'hui, le nombre des chasseurs français est de très loin supérieur à ceux des autres pays européens. Ce noble gibier qu'est le lièvre s'est vu de plus en plus décimé malgré son pouvoir cynégétique, surtout après l'épidémie de myxomatose qui frappa le lapin en 1952. Le lièvre supporta alors à lui seul l'acharnement des chasseurs. De plus, depuis la raréfaction du petit coq de bruyère et de la gélinotte, il reste le seul gibier des régions de montagne.

Devant la diminution du nombre des lièvres, les sociétés de chasse françaises ont dû s'approvisionner hors frontières afin de retrouver un effectif valable, répondant à l'exigence des chasseurs. Malheureusement, cette dépense considérable en lièvres d'importation semble être inefficace. A ce sujet, plusieurs hypothèses furent formulées :

- infécondité des sujets (11-12),
- mauvais état sanitaire des sujets (12, 13, 17, 8),
- écologie défavorable offerte au sujet (16, 3, 6, 8),
- influence du stress (dû au transport) dans la mortalité des sujets.

La reconnaissance plus précise de ces différents facteurs et leur contrôle ultérieur exigent des études approfondies dont la détermination des profils hématologiques et biochimiques constituent l'un des principaux éléments de base.

D e u x i è m e P a r t i e

P R O T O C O L E D ' E T U D E

C h a p i t r e P r e m i e r

LES ANIMAUX ET LES PRELEVEMENTS BIOLOGIQUES

I - Les animaux.

En deux années consécutives, nous avons retenu au total 70 lièvres de l'espèce *Lepus europaeus* provenant du centre d'élevage de l'I.N.R.A., Saint-Benoît, 78 - AUFFARGIS, pour entreprendre nos analyses biochimiques et hématologiques. Tous ces animaux, identifiés par une bague à l'oreille, semblaient être cliniquement sains.

Parmi ces 70 sujets, nous avons pu dénombrer 28 mâles et 42 femelles, dont 21 hases stériles ayant fait l'objet de nombreuses études particulières (11, 12).

Comme nous le signalions dans les chapitres précédents, le lièvre est un animal très craintif, sujet à de nombreux stress, et sa captivité, dans nos "parquets" mal adaptés, s'est soldée par une forte et rapide mortalité.

II - Les prélèvements.

C'est le temps essentiel de tout examen, tant hématologique que biochimique, puisqu'il conditionne la réalisation des opérations ultérieures et la rigueur des résultats qu'ils fournissent. Quelle que soit la nature des examens envisagés, le matériel servant aux prélèvements devra être sec (pour éviter l'hémolyse) et stérile. Les prises de sang devront être faites selon une technique précise et surtout avec le maximum de dextérité, afin de limiter le "stress".

1. Les voies de prélèvement.

Dans la grande majorité des cas, nous pratiquons une ponction veineuse dans le triangle fémoral, à la veine saphène, l'animal étant maintenu en décubitus latéral.

Dans certains autres cas, nous sommes contraints de pratiquer des ponctions cardiaques à la suite de formation brutale d'hématomes importants envahissant le triangle fémoral.

Nous préférons toujours la ponction veineuse à la ponction cardiaque car cette première est la moins traumatisante et nécessite un minimum de contention. En outre, à la suite de ponction cardiaque, certains animaux sont morts de choc vagal.

2) Les milieux de prélèvement.

Pour l'étude hématologique, nous pratiquons deux prélèvements (un pour les globules rouges et un pour les globules blancs) sur unopettes (B.D. Mérieux), et réalisons un frottis sanguin par animal.

Pour l'étude biochimique, nous effectuons deux prélèvements consécutifs par animal, sur tubes de 10 ml :

- un tube avec anticoagulant (fluorure de sodium à 10 mg/ml de sang) pour le dosage du glucose sanguin ;
- un tube sec pour les autres dosages biochimiques du sérum sanguin (ions sodium, potassium, calcium, magnésium - protéines totales et fractions protéiques - urée - enzymes : S.G.O.T., S.G.P.T.).

C h a p i t r e D e u x i è m e

PRINCIPES ET METHODES D'ANALYSES

I - Hématologie.

1. Numération des éléments figurés du sang.

C'est une opération qui permet de déterminer le nombre de cellules sanguines contenues dans un millimètre-cube de sang.

Principe.

En raison de la grande richesse du sang en éléments figurés, la numération ne peut se faire qu'après dilution.

La numération érythrocytaire est faite dans du liquide de Marciano, avec une dilution sanguine au 1/200e.

La numération leucocytaire est faite dans une solution de bleu acétique, avec une dilution sanguine au 1/20e.

Le liquide de Marciano est isotonique, colorant, et fixateur alors que la solution de bleu acétique lyse les hématies et colore légèrement les leucocytes.

Technique.

Après dilution du sang dans les liquides correspondants, le comptage des éléments figurés du sang est fait sur une cellule hématimétrique de Malassez où un quadrillage dessine des rectangles mesurant 1/5 mm sur 1/4 mm. Ces rectangles, afin de faciliter la lecture, sont eux-mêmes divisés en 20 carrés de 1/20 mm de côté.

Le comptage se fait au microscope, à sec, avec un grossissement de x 200 à x 400, afin d'embrasser dans le champ du microscope un rectangle de 20 carrés (= unité de comptage).

Pour les hématies, le comptage est fait dans au moins 3 rectangles de la cellule de Malassez (c'est-à-

dire 60 carrés), éloignés les uns des autres et l'on en déduit la moyenne par rectangle.

Pour obtenir la numération érythrocytaire, nous appliquons la formule suivante :

$$N = n \times 200 \times 100$$

N = nombre d'hématies dans 1 mm³ de sang.

n = nombre moyen d'hématies par rectangle.

200 = facteur de dilution.

100 = unité de volume de la cellule de Malassez.

Pour les leucocytes, le comptage est fait dans un plus grand nombre de rectangles du quadrillage de la cellule de Malassez, leur nombre étant bien inférieur à celui des globules rouges (15).

La numération leucocytaire est alors obtenue en appliquant la formule suivante :

$$N = n \times 20 \times 100$$

2. Formule leucocytaire.

La formule leucocytaire indique les pourcentages respectifs des différentes espèces leucocytaires existant dans un échantillon de sang.

Principe.

Elle est obtenue après comptage de 100 cellules sur des frottis colorés selon la technique de May-Grünwald-Giemsa.

La coloration de May-Grünwald-Giemsa ou coloration panoptique permet de colorer à la fois des éléments basophiles (en bleu), les éléments éosinophiles (en rouge), les éléments azurophiles (en violet pourpre) et les granulations neutrophiles (en teinte intermédiaire).

Cette coloration se fait sur frottis non fixé, le premier temps de la coloration servant lui-même de fixateur (15).

Technique.

La coloration des frottis est basée sur l'emploi successif de deux colorants : le May-Grünwald qui est de l'éosinate de bleu de méthylène (il sert aussi de fixateur) (25) ;

le Giemsa qui est de l'azur de méthylène-éosine.

Une fois le temps de coloration panoptique écoulé (environ 25 minutes), nous plongeons la lame porte-objet dans du xylol afin de conserver la préparation. Nous faisons ensuite l'examen du frottis coloré avec un microscope muni d'un objectif à immersion.

L'établissement de la formule leucocytaire est alors fait en dénombrant les différents éléments leucocytaires après comptage d'une centaine de cellules.

II - Biochimie.

Nous allons rapporter les différentes méthodes utilisées pour le dosage des éléments suivants :

- ions sodium, potassium, magnésium et calcium ;
- protéines totales et fractions protéiques séparées par électrophorèse de zone (albumine, globuline, α_1 , α_2 , β , γ)
- urée et glucose ;
- enzymes : transaminase glutamo-oxalacétique (S.G.O.T.)
transaminase glutamo-pyruvique (S.G.P.T.).

1. Ions sodium et potassium.

Nous dosons ces ions au moyen d'une méthode physique : la photométrie de flamme, méthode rapide, précise, ne demandant qu'un très faible volume de sang.

Principe.

Lorsqu'on chauffe une solution saline dans une flamme, l'eau s'évapore et les sels minéraux restent à l'état d'ions. Les atomes ainsi portés à haute température, captant une partie de l'énergie apportée par la flamme et passent à un état "excité". Puis l'atome excité revient à son état initial en libérant de l'énergie sous forme d'une émission de lumière dont la longueur d'onde (λ) est caractéristique de l'ion considéré.

Réactifs.

Nous utilisons un photomètre à flamme mettant en jeu un étalon interne de lithium. Les différents réactifs utilisés sont :

- . eau bidistillée ;
- . solution-mère de lithium à 1500 mEq/l. Dans cette expérience, on utilise une solution-fille à 15 mEq/l après dilution de la solution-mère au 1/100e dans l'eau bidistillée.
- . solution étalon de sodium à 140 mEq/l qui correspond à 8,19 g/1000 de chlorure de sodium pur.
- . solution étalon de potassium à 5 mEq/l correspondant à 0,372 g/1000 de chlorure de potassium pur.

Technique.

Nous introduisons respectivement dans les godets en plastique du Technicon, à l'aide d'une micropipette :

10 μ l de solution étalon (de sodium ou de potassium)
10 μ l de sérum
2 ml de la solution fille de lithium.

Nous faisons le zéro de l'appareil à l'aide de la solution-fille de lithium.

Nous passons l'étalon (de sodium ou de potassium) dans le photomètre et nous amenons les lecteurs digitaux à 140 (pour le sodium) et à 5 (pour le potassium).

Enfin, nous passons l'échantillon de sérum à étudier.

Calculs.

La lecture est directe en mEq/l.

Il ne reste plus qu'à faire la conversion en g/l sachant que

$$\text{mEq/l} = \frac{\text{Concentration en mg\%} \times \text{valence}}{\text{poids atomique}}$$

et en se référant à la table de conversion de COLIN et POLONOWSKI.

2. Ions magnésium.

Les ions sont dosés par spectrophotométrie d'absorption atomique : cette méthode permet le dosage de certains éléments minéraux par utilisation de leur spectre de raies.

Principe.

D'après la loi de Kirchhoff, tout atome peut absorber la radiation qu'il peut émettre.

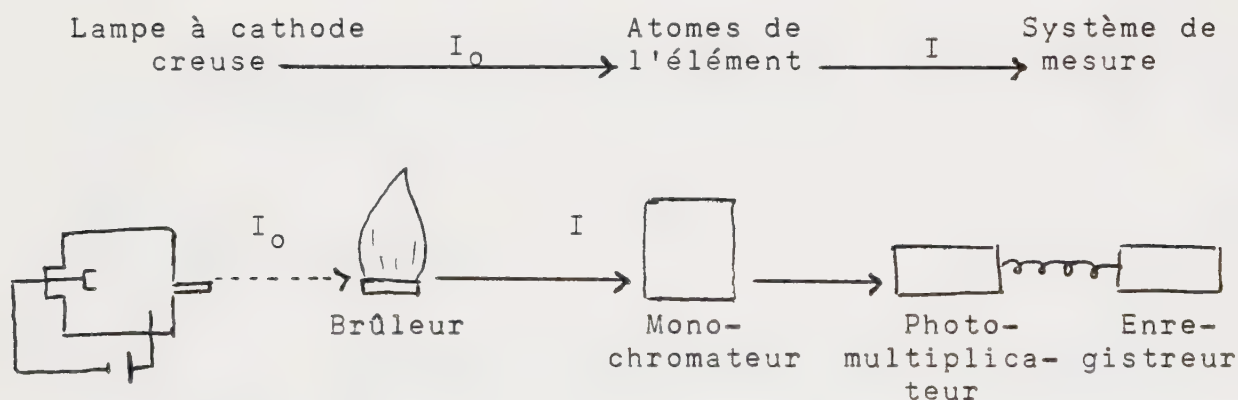
Lorsqu'un élément capte de l'énergie, il passe d'un état stable à un état "excité" (comme pour la photométrie de flamme) en absorbant une partie de cette énergie, puis revient à son état initial par une série d'étapes ; à chaque étape correspond une libération d'énergie sous forme d'une radiation. La dernière étape, précédant immédiatement le retour à l'état initial, est en général très énergétique et fournit ainsi une radiation de grande intensité : elle porte le nom de "raie de résonance".

Appareillage et technique.

Il faut une source de radiation contenant l'élément à doser : nous utilisons la lampe à cathode creuse, constituée par le métal à doser (ici le magnésium) qui donnera la raie de résonance. Le passage du courant électrique ionise le gaz et les ions ainsi formés frappent la cathode en y produisant une radiation de fréquence ν .

Cette expérience nécessite aussi la production d'une vapeur atomique. Le passage à l'état atomique est assuré par une nébulisation de la solution à doser dans une flamme de très haute température.

Schémas de l'absorption atomique :



Calculs.

Après passage sur un monochromateur, le flux lumineux vient frapper un photomultiplicateur qui transforme l'énergie lumineuse en énergie électrique.

Ainsi, soit

I_0 : l'énergie incidente de fréquence ,
 I : l'énergie transmise après traversée d'un milieu contenant N atomes absorbants peut s'exprimer ainsi :

$$I = I_0 \cdot e^{-k\sqrt{N}}$$

k : étant une constante d'où

$$\log I = \log I_0 - k\sqrt{N}$$

$$\log \frac{I_0}{I} = k\sqrt{N}$$

k et $\sqrt{N}$ étant constants, ainsi que I_0 , du moins pendant la durée de l'expérience, la mesure de I permet d'obtenir la valeur de N .

3. Ions calcium.

Nous utilisons une méthode rapide : la complexométrie.

Principe.

On forme un chélate de calcium avec un complexon (sel disodique de l'acide éthylène-diamine tétra-acétique : E.D.T.A.), dans lequel l'ion calcium est dissimulé à ses réactifs.

On dose alors le complexon excédentaire et l'on en déduit la quantité de complexon qui a été nécessaire pour complexer tout le calcium présent dans la prise d'essai (complexométrie par retour).

Réactifs.

. Complexon III M/800 :

E.D.T.A. disodique bihydraté 0,465 g
Eau bidistillée q.s.p. 1000 ml

. Etalon de calcium à 100 mg/l :

CaCO_3 R.P. pour analyses 0,250 g
HCl 0,1 N 9 ml

Après dissolution de CaCO_3 , dans les proportions ci-dessus, on complète au litre avec de l'eau bidistillée.

. Solution alcaline de cyanure de sodium :

Hydroxyde de potassium pur 450 g
Cyanure de sodium pur 10 g
Eau distillée 1000 ml

. Indicateur de Patton et Reeder :

Réactif de Patton et Reeder . . . 1 partie
Na₂SO₄ anhydre et pur 100 parties

Technique.

Dans un bécher de 30 ml, nous introduisons :

sérum non hémolysé 2 ml
Eau distillée 10 ml
Solution alcaline de cyanure de sodium . . 1 ml
Indicateur 4 à 5 g

Puis nous titrons par la solution du Comple-
xon III jusqu'à virage du rose au bleu vert, soit N ml
de Complexon.

Calculs.

Soit N ml de Complexon utilisés pour titrer la solution de
sérum.

Soit n ml de complexon utilisés pour titrer un témoin obte-
nu en remplaçant les 2 ml de sérum par 2 ml
d'eau distillée.

$$\text{Calcium en mg/l : } \frac{0,050 \times (N-n) 100}{2}$$

$$: (N-n) 25$$

4. Protéines totales.

Nous les dosons par la méthode au Biuret
adaptée à l'autoanalyseur Technicon.

Principe.

Une solution protéique, additionnée de sulfate
de cuivre et de soude, donne une coloration violette stable
dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en
protéines, dans certaines conditions. Cette coloration est
due aux liaisons peptidiques - NH - CO - . La réaction
n'est pas rigoureusement spécifique des protéines, les di-
vers produits de dégradation de celles-ci, jusqu'aux poly-
peptides, sont susceptibles de la donner.

Réactifs.

Soude décarbonatée :

Soude pure en batons (ou en pastilles)	200 g
Eau distillée	200 ml

Réactif de Gornall :

CuSO ₄ , 5 H ₂ O	1,50 g
Tartrate double de sodium et de potassium	6 g
Soude (exempte de carbonate)	30 g
Iodure de potassium	1 g
Eau distillée q.s.p.	1000 ml

Solution physiologique à 9 g/1000 de NaCl.

Solution saturée de NaCl :

NaCl pur	363 g
Eau distillée	1000 ml

CH₃COOH à 1 %.

Technique.

Le dosage doit être fait avec une solution de protéines contenant 2 à 6 mg de protéines par ml, d'où la nécessité de diluer le sérum au 1/20.

Sérum	0,10 ml
Solution physiologique .	1,90 ml
Réactif de Gornall . . .	8,00 ml

Nous préparons ensuite un "blanc" en mélangeant 2 ml de solution physiologique avec 8 ml de réactif de Gornall.

Nous laissons la coloration de ces solutions s'établir pendant 30 minutes à 20-25° C. La lecture est faite au photomètre sur du liquide parfaitement limpide (après centrifugation si nécessaire).

Calculs.

Après avoir fait le zéro de l'appareil sur le "blanc", la lecture est faite à 540 nm. Puis nous nous reportons ensuite à la courbe d'étalonnage.

La courbe d'étalonnage est réalisée avec un sérum artificiel : "Lab-Trol" (Biolyon, Lyon) dont la teneur exacte en protéines est donnée par le fabricant.

5. Albumines et globulines.

Principe.

Les molécules de protéines possèdent une charge électrique : si on les place dans un champ électrique, elles se déplacent ; le sens de migration dépend du pH de la solution étudiée, par rapport au pH isoélectrique des protéines.

La vitesse de déplacement dépend essentiellement de la charge électrique de la protéine, mais d'autres facteurs interviennent aussi : intensité de la différence de potentiel, poids moléculaire, forme de la molécule, force ionique du tampon, nature du support.

Pour le dosage biochimique des albumines et globulines du sérum sanguin, nous avons retenu la technique par électrophorèse de zone sur acétate de cellulose en tampon véronal pH : 8,6 et coloration à l'amido-Schwartz.

Réactifs.

Acétate de cellulose : bandes Cellogel : 2,5 x 17 cm.
(Sebia, 3 bd Exelmans, 76016 PARIS).

Tampon à pH : 8,6, force ionique : .0,05

Véronal (diéthyl-malonylurée :	
barbital)	1,34 g
Véronal sodique	10,30 g
Eau distillée	1000 ml

Colorant révélateur :

Amidoschwartz	0,50 g
Méthanol	50 ml
puis	
Eau distillée	40 ml
Acide acétique	10 ml

Solution de lavage :

Méthanol	500 ml
Eau distillée	350 ml
Acide acétique	85 ml
Diacétone alcool	85 ml

Technique.

On immerge la bande dans le tampon pendant 10 à 15 mn. On presse légèrement entre deux feuilles de papier filtre pour éliminer l'excès de liquide.

On place la bande de Cellogel sur le support de l'appareil, surface mate vers le haut, et on fait tremper les extrémités dans la solution tampon.

On dépose le long de la ligne de départ (à 2,5 cm de l'extrémité située vers l'électrode négative) 3 μ l de sérum non hémolysé.

On applique une tension de 125 volts pendant deux heures. Elle permettra la migration des protéines vers le pôle positif.

Puis on sort les bandes et on les met immédiatement dans le colorant quelques minutes. On les passe ensuite successivement dans trois ou quatre bains de solution de lavage.

On étend alors la bande de Cellogel sur une lame de verre propre et on porte à l'étuve à 80° C jusqu'à transparence complète. On retire la plaque de verre de l'étuve et on la retourne sur une feuille de papier propre.

Enfin on photomètre la bande. On obtient ensuite une courbe comportant cinq pics.

Calculs.

On trace les courbes de Gauss et l'on planimètre les surfaces ainsi délimitées ; les résultats sont alors exprimés en pourcentage des protéines totales.

6. Urée.

Principe.

Parmi les nombreuses méthodes recensées, nous avons retenu la méthode colorimétrique directe à la diacétylmonoxime (Coffret Urée N-Test de WAKO délivré par Biolyon - Lyon).

C'est une méthode rapide, n'exigeant que de faibles quantités de sang. Elle utilise la réaction Fearson (coloration rouge obtenue en traitant l'urée par la diacétylmonoxime et la thiosemicarbazide, au bain-marie bouillant, en milieu fortement acide). L'hydroxylamine formée est ensuite détruite par un oxydant le permanganate de potassium.

La lecture se fait au colorimètre Eppendorf avec une densité optique correspondant à 530 nm.

Réactifs.

Réactif de coloration A (Stock) : Acide phosphorique à 45 %

Réactif de coloration B (Stock) : Solution de diacétylémoxime à 0,6 %

On prépare chaque jour la quantité nécessaire de colorant en mélangeant dans un flacon :

5 parties du réactif de coloration A
1 partie du réactif de coloration B.

Le mélange est stable 24 heures au réfrigérateur, à l'abri de la lumière.

Solution étalon d'urée à 1,07 mg/ml d'urée.

Réactif de décoloration : KMnO_4 1 N.

Technique.

Le dosage se fait sur 3 tubes à essai :

	Blanc	Sérum	Etalon
Echantillon	-	0,02ml	-
Solution étalon	-	-	0,02ml
R. coloration	5 ml	5 ml	5 ml

On mélange bien en agitant et on met tous les tubes au bain-marie bouillant pendant 25 minutes.

Au bout de ce temps, on plonge immédiatement tous les tubes dans l'eau froide (eau courante du robinet) pendant deux à trois minutes.

On mesure les densités optiques des liquides des tubes S et E contre celui du tube B, au spectrophotomètre à 546 nm.

Calculs.

A partir des densités optiques, à partir d'une simple règle de trois (la courbe d'étalonnage est droite depuis l'origine jusqu'à 2 g/l), le taux d'urée peut se calculer comme suit :

$$\text{urée en g/l} = \frac{\text{d.o. tube S}}{\text{d.o. tube E}} \times 1,07$$

7. Glucose.

Le dosage est à faire rapidement pour éviter la glycolyse. Nous avons choisi la microméthode à l'orthotoluidine basée sur la formation de dérivés furfuraliques.

Principe.

En milieu acétique, à chaud et en présence de thiourée, le glucose donne, par condensation avec l'orthotoluidine, un composé relativement stable dont le spectre d'absorption présente plusieurs sommets : la coloration dominante est bleu-vert.

Réactifs.

Réactif 1 : acide trichloracétique :

Acide trichloracétique 3 g
Eau bidistillée 100 ml.

Autres réactifs : coffret Boehringer.

Technique.

On procède à une déprotéinisation et à la réaction proprement dite.

	Essais	Blanc
<u>Déprotéinisation</u>		
Sang	20 l	-
Réactif I	200 l	-
Boucher et agiter 30 secondes. Laisser reposer 2 à 3 minutes. Centrifuger 1 minute.		
<u>Réaction</u>		
Surnageant	100 l	-
Réactif 2	500 l	500 l
Réactif 1	-	100 l
Boucher et agiter 30 secondes. Placer le portoir sur le thermostat et déclencher un compte-secondes		

Après 15 minutes, on met le portoir au réfrigérateur à + 4° C. On attend le refroidissement complet des tubes (15 à 20 minutes). On agite 30 secondes et on passe aux mesures.

Les mesures se font avec un filtre Hg 578 nm et une microcuve. On rince la cuve plusieurs fois avec de l'acide acétique à 96 %.

On fait le zéro de densité optique avec ce même acide acétique et on mesure la densité optique des essais et du blanc.

Calculs.

On se reporte à la courbe d'étalonnage ou on procède par calcul en remplaçant le coefficient angulaire proposé dans la formule ci-dessous par celui trouvé lors de l'étalonnage.

glucose (mg/100 ml sang) = 552 x D.O. (essai, blanc).

8. Transaminases.

Nous avons dosé les transaminases glutamique-oxalacétique (S.G.O.T.) et glutamique-pyruvique (S.G.P.T.) par la méthode de Reitman et Frankel en lumière visible.

Principe.

Cette méthode de dosage colorimétrique consiste à apprécier la quantité d'acide pyruvique ou oxalacétique formés au cours de la réaction de transamination, par l'intermédiaire de leur 2-4 dinitrophénylhydrazone. La densité optique de la coloration brune obtenue en milieu alcalin peut être reliée à l'activité enzymatique du sérum à doser.

Réactifs.

Réactif I : Substrat S.G.O.T.

Solution d'acide aspartique de l'acide α -céto-glutarique tamponnée à pH : 7,5.

Réactif II : substrat S.G.P.T.

Solution d'alanine et d'acide α -cétoglutarique tamponnée à pH : 7,5.

Réactif III : solution de dinitrophénylhydrazine.

Réactif IV : Standard d'étalonnage.

Solution de pyruvate de sodium.

Soude à 0,4 N.

Technique.

On établit d'abord la courbe d'étalonnage à l'aide de la gamme de tubes suivants :

N° tubes	1	2	3	4	5	6
Eau distillée (en ml)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Réactif I	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5
Réactif IV	-	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Réactif III	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Laisser 20 minutes à la température du laboratoire.						
Soude 0,4 n	10	10	10	10	10	10
Unités SGOT	0	22	55	95	150	215
Unités SGPT	0	25	50	83	126	-

Après mélange et attente de 5 minutes, on lit les densités optiques à 505 nm contre de l'eau distillée. Puis on trace la courbe d'étalonnage en portant en ordonnées les pourcentages de transmission et en abscisses le nombre d'unités par ml.

Réaction proprement dite permettant la détermination simultanée de la S.G.O.T. et de la S.G.P.T. On pipette 1 ml du réactif I et on le porte au bain-marie à 37° C pendant 5 minutes. On ajoute 0,2 ml de sérum. Après mélange, en agitant, on porte le tube au bain-marie à 37° C pendant 1 heure exactement. 20 minutes après cette manipulation, on pipette 1 ml du réactif II, dans un deuxième tube que l'on porte au bain-marie pendant 5 minutes.

30 minutes exactement après avoir mis le premier tube (S.G.O.T.) au bain-marie, on met dans le deuxième tube (S.G.P.T.) 0,2 ml de sérum et on le remet au bain-marie à 37° C. Enfin après 30 minutes exactement, on sort les deux tubes du bain-marie (le tube S.G.O.T. y sera resté 1 heure, le tube S.G.P.T. 30 minutes). On ajoute dans chaque tube 1 ml de réactif III. On mélange. On laisse 20 minutes à la température du laboratoire.

Pour finir, on met dans tous les tubes 10 ml de solution de soude 0,4 N. On mélange. On attend 5 minutes avant de photométrer. La coloration est stable pendant au moins 1 heure.

Calculs.

On lit les pourcentages de transmission à 505 nm. On détermine alors le nombre d'unités S.G.P.T. et S.G.O.T. (exprimé en unités Reitman Frankel) d'après la courbe d'étalonnage.

T r o i s i è m e P a r t i e

R E S U L T A T S D ' A N A L Y S E S B I O L O G I Q U E S

C h a p i t r e P r e m i e r

R E S U L T A T S

Dans cette partie, nous rapportons les valeurs numériques des paramètres hématologiques et biochimiques du lièvre (*Lepus europaeus*).

Les résultats hématologiques concernant la numération et la formule sanguine du lièvre (mâle et femelle) sont consignés dans les tableaux n° 1, 2, 3, 4.

Les résultats numériques des différents paramètres biochimiques du sérum sanguin du lièvre sont rassemblés dans les tableaux n° 5, 6, 7.

Nous avons représenté un électrophorégramme type de l'espèce étudiée sur la figure n° 1.

Les valeurs relevées dans les différents tableaux suivants ont été soumises à une analyse statistique dont les buts sont :

- de donner une plus grande nuance dans l'appréciation des résultats,
- de rechercher s'il existe une différence hématologique (du point de vue numérique) entre les deux sexes de lièvre,
- de rechercher s'il existe une différence significative entre les paramètres du lièvre et ceux du lapin donnés par la littérature.

Cette étude statistique porte sur la moyenne, l'écart-type, l'erreur standard de la moyenne, le coefficient de variation (rapport de l'écart-type à la moyenne), le coefficient de signification (rapport de l'erreur standard à la moyenne), l'intervalle de confiance et les valeurs extrêmes.

MALES ET FEMELLES	ERYTHROCYTES / mm ³	LEUCOCYTES / mm ³	F O R M U L E L E U C O C Y T A I R E				
			P.N. p. 100	P.E. p. 100	P.B. p. 100	Lymph. p. 100	Basoph. p. 100
Moyenne	10 007 800	6 824	44,22	1,93	0,14	51,83	2,35
Répétitions	61	63	59	59	59	59	59
Ecart-type	1,62	2,94	20,01	2,30	0,46	19,74	2,94
Erreur standard de la moyenne	0,20	0,37	2,62	0,30	0,35	2,57	0,38
Coefficient de variation	16,16	42,99	45,44	119,53	249,75	38,07	124,81
Coefficient de signification	2,06	5,41	5,91	15,68	32,64	4,95	16,24
Intervalle de confiance	{ 9 615 808 10 399 792	{ 6 098 7 549	{ 39,08 49,35	{ 1,34 2,51	{ - 0,68 0,82	{ 46,79 56,86	{ 1,60 3,09
Valeurs extrêmes	3,18—14,04	1,12—19,49	11—92	0—11	0—1	7—89	0—12

TABLEAU N° 1 : Numération et formule sanguine du lièvre de sexe mâle et femelle.

M A L L E S	ERYTHROCYTES / mm ³	LEUCOCYTES / mm ³	F O R M U L E L E U C O C Y T A I R E				
			P.N. p. 100	P.E. p. 100	P.B. p. 100	Lymph. p. 100	Basoph. p. 100
Moyenne	10 102 100	6 299	34,60	2,10	0,10	63,10	2,40
Répétitions	23	24	20	20	20	20	20
Ecart-type	2,07	2,88	19,11	2,12	0,30	15,21	2,85
Erreur standard de la moyenne	0,43	0,58	4,27	0,47	0,06	3,40	0,68
Coefficient de variation	20,55	45,80	55,25	101,19	307,70	24,11	118,92
Coefficient de signification	4,28	9,34	12,35	22,61	68,50	5,39	26,59
Intervalle de confiance	{ 9 210 280 10 994 920	{ 5 098 7 499	{ 25,66 43,54	{ 1,11 3,08	{ 0,02 0,22	{ 55,98 70,21	{ 0,97 3,82
Valeurs extrêmes	3,18 — 13,42	1,12 — 11	11 — 57	0 — 7	0 — 1	31 — 89	0 — 9

TABLEAU N° 2 : Numération et formule sanguine du lièvre de sexe mâle.

F E M E L L E S	ERYTHROCYTES / mm ³	LEUCOCYTES / mm ³	F O R M U L E L E U C C O C Y T A I R E					
			P.N. p. 100	P.E. p. 100	P.B. p. 100	Lymph. p. 100	Basoph. p. 100	
Moyenne	9 950 700	7 152	49,15	1,84	0,15	46,05	2,33	
Répétitions	38	39	39	39	39	39	39	
Ecart-type	1,29	2,95	18,97	2,39	0,36	19,43	3,02	
Erreur standard de la moyenne	0,20	0,47	3,03	0,38	0,05	3,11	0,48	
Coefficient de variation	12,98	41,26	38,60	129,46	237,64	42,19	129,43	
Coefficient de signification	2,10	6,60	6,18	20,72	37,90	6,75	20,72	
Intervalle de confiance	{ 9 558 708 10 342 692	{ 6 230 8 073	{ 43,21 55,08	{ 1,09 2,58	{ - 0,54 0,84	{ 39,95 52,14	{ 1,38 3,27	
Valeurs extrêmes	7,47-14,04	2,78-19,40	11-92	0-11	0-1	7-86	0-12	

TABLEAU N° 3 : Numération et formule sanguine du lièvre de sexe femelle.

	ERYTHROCYTES / mm ³	LEUCOCYTES / mm ³	F O R M U L E L E U C O C Y T A I R E				
			P.N. p. 100	P.E. p. 100	P.B. p. 100	Lymph. p. 100	Basoph. p. 100
MALES	5 450 000 ± 130 000	7 140 ± 740	36,29 ± 2,94	2,00 ± 0,57	1,35 ± 0,43	58,47 ± 2,79	2,47 ± 0,40
FEMELLES	5 300 000 ± 140 000	7 010 ± 480	23,42 ± 2,52	0,89 ± 0,20	1,74 ± 0,58	71,53 ± 3,01	2,37 ± 0,43

TABLEAU N° 4 : Numération et formule sanguine du Lapin (14).

(selon C. KOZMA, W. MACKLIN, L.M. CUMMINS, R. MAUER).

MALES ET FEMELLES	PROTEINES g/l	SODIUM g/l	POTASSIUM g/l	CALCIUM g/l	MAGNESIUM g/l
Moyenne	55,83	3,24	0,194	0,120	0,036
Répétitions	24	25	25	17	25
Ecart-type	13,76	0,32	0,080	0,014	0,012
Erreur standard de la moyenne	2,81	0,063	0,016	0,0033	0,0023
Coefficient de variation	24,64	9,82	41,10	11,52	32,33
Coefficient de signification	5,03	1,96	8,22	2,76	6,41
Intervalle de confiance	{ 50,21 61,45	{ 3,11 3,37	{ 0,162 0,226	{ 0,113 0,127	{ 0,031 0,041
Valeurs extrêmes	40 — 92	2,29 — 3,97	0,099 — 0,485	0,094 — 0,146	0,023 — 0,066

TABEAU N° 5 : Paramètres biochimiques du lièvre (18).

MALES ET FEMELLES	GLUCOSE g/l	S.G.O.T. Unités R.F.	S.G.P.T. Unités R.F.	UREE g/l
Moyenne	1,63	161,5	86,81	0,539
Répétitions	51	60	59	25
Ecart-type	0,396	71,18	44,32	0,464
Erreur standard de la moyenne	0,055	9,18	5,77	0,093
Coefficient de variation	24,23	44,07	51,06	86,17
Coefficient de signification	3,39	5,68	6,65	17,23
Intervalle de confiance	{ 1,52 1,74	{ 143,1 179,9	{ 75,27 98,35	{ 0,353 0,725
Valeurs extrêmes	1,07 — 3,01	38 — 328	12 — 187	0,02 — 2,22

TABLEAU N° 6 : Paramètres biochimiques du lièvre (18).

MALES ET FEMELLES	ALBUMINES	GLOBULINES			
		α_1	α_2	β	γ
Moyenne	42,88	13,08	15,27	15,42	13,32
Répétitions	9	9	9	9	9
Ecart-type	4,25	2,22	4,40	5,54	2,91
Erreur standard de la moyenne	1,42	0,739	1,46	1,84	0,970
Coefficient de variation	9,92	16,97	28,81	35,90	21,86
Coefficient de signification	3,30	5,65	9,60	11,96	7,28
Intervalle de confiance	$\begin{cases} 41,46 \\ 44,30 \end{cases}$	$\begin{cases} 12,34 \\ 13,82 \end{cases}$	$\begin{cases} 13,81 \\ 16,73 \end{cases}$	$\begin{cases} 13,58 \\ 17,26 \end{cases}$	$\begin{cases} 12,35 \\ 14,29 \end{cases}$
Valeurs extrêmes	36,9—47,7	10,2—16,9	10,7—22,8	8,6—24,6	10,2—19,2

TABLEAU N° 7 : Paramètres biochimiques du lièvre (18).

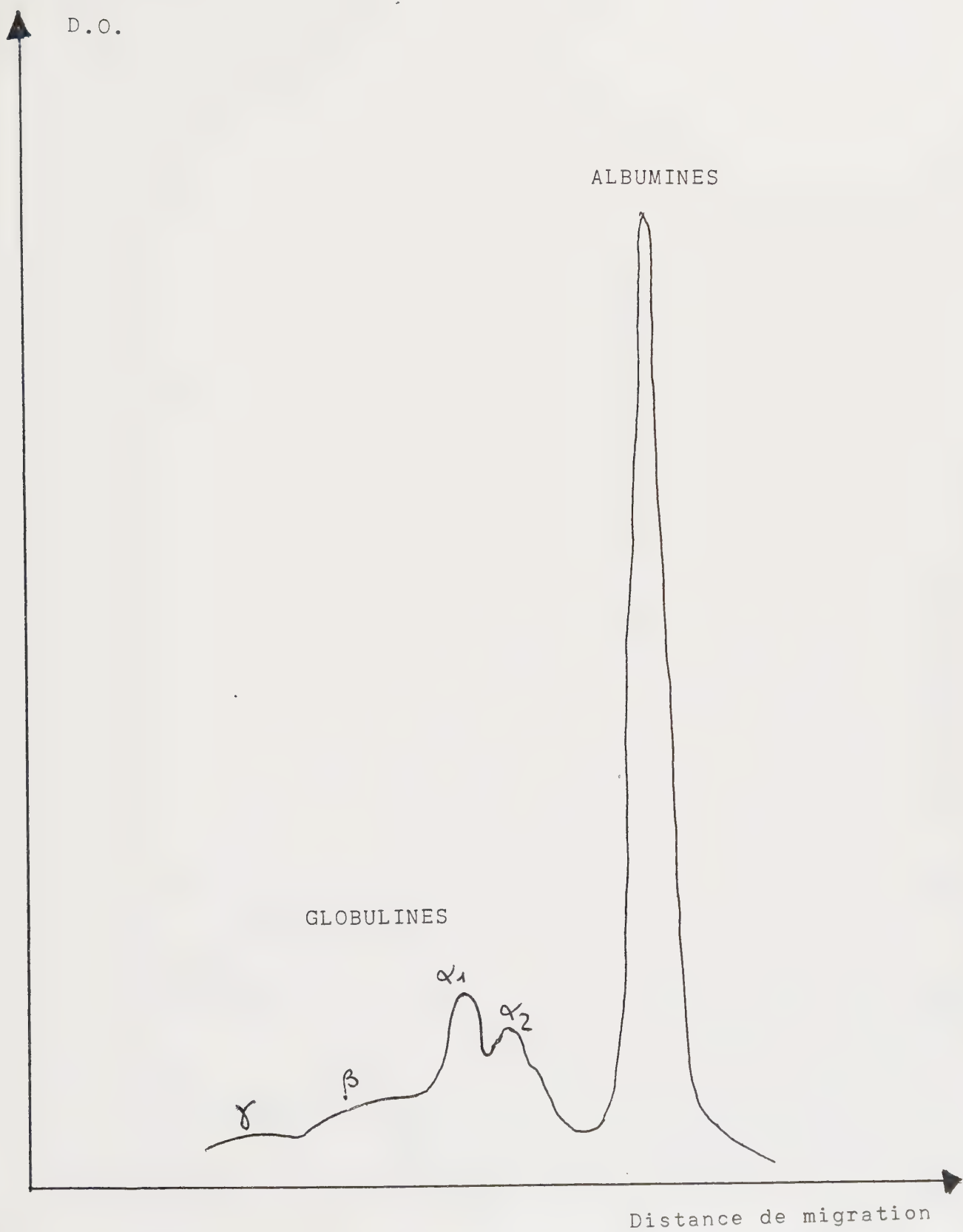


FIGURE N° 1 : Electrophorégramme type d'un sérum de lièvre (18).

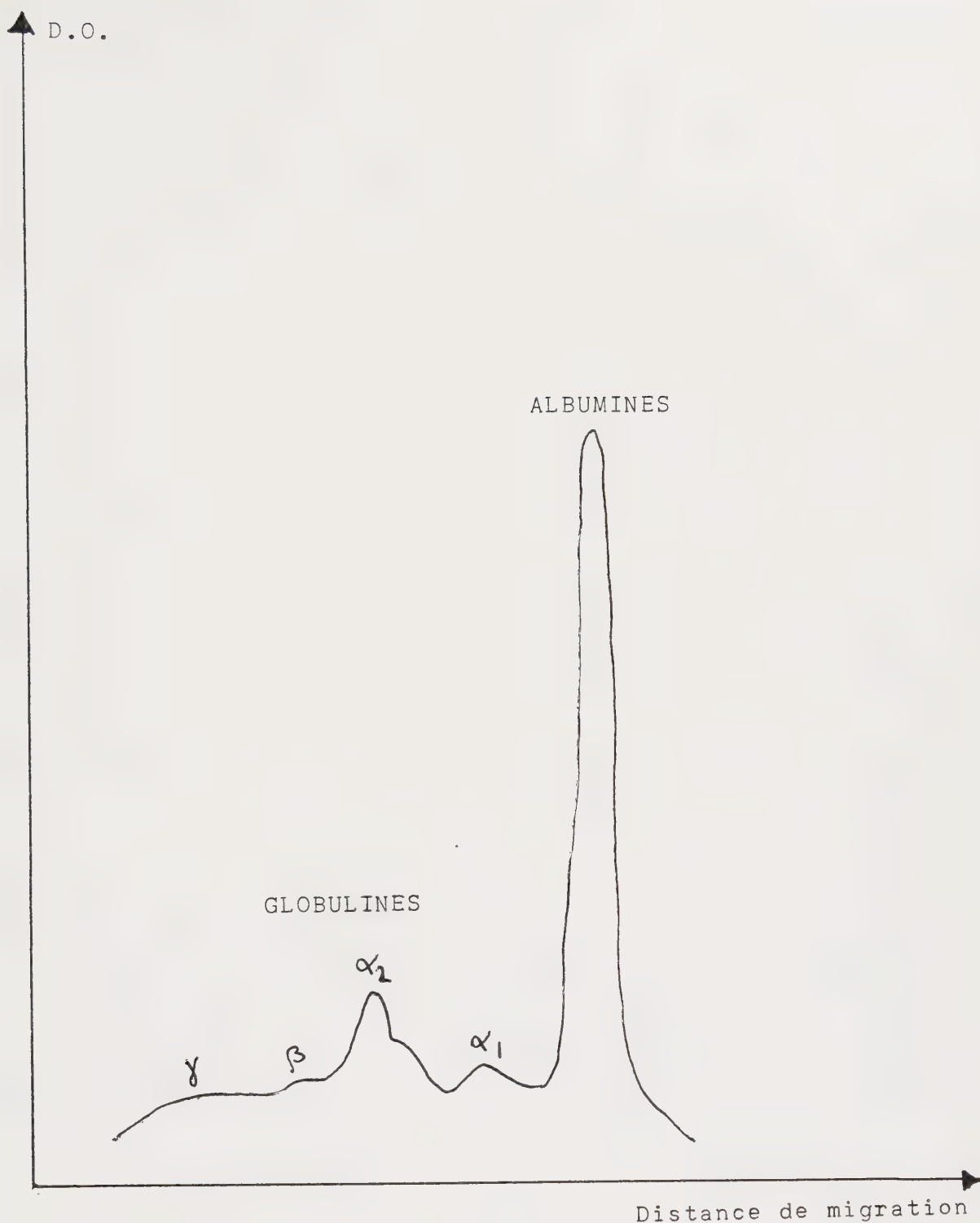


FIGURE N° 2 : Electrophorégramme type d'un sérum de lapin (27).
(d'après J. VAISSAIRE, J.P. LABADIE,
C. RENAULT et Cl. MAIRE).

SODIUM (g/l)	3,24 3,50	3,128 3,75	DITTMER, 1961 MOLLEREAU et coll., 1973
POTASSIUM (mg/l)	106	200	MOLLEREAU et coll., 1973
CALCIUM (mg/l)	112	161	MOLLEREAU et coll., 1973
MAGNESIUM (mg/l)	39 ± 5,9		EVELETH, 1937
PROTEINES (g/l)	72 ± 1,1 59 ± 1,2		HUDGINS et coll., 1956 WEIMER et coll., 1954
FRACTIONS PROTEIQUES EN % RELATIFS; Albumine Globulines :	64 ± 1,63 7,21 ± 0,96 5,8 ± 1,05 12,8 ± 1,20 9,9 ± 1,10 α_1 α_2 β γ		ALLEN et WATSON, 1968
GLUCOSE (g/l)	1,3	1,9	MOLLEREAU et coll., 1973
UREE (g/l)	0,298		REMLINGER et coll., 1937

TABLEAU N° 8 : Principales normes biochimiques sériques du Lapin.
(Chiffres donnés par la littérature).

C h a p i t r e D e u x i è m e

D I S C U S S I O N

En l'absence de données publiées dans la littérature, nous ne pouvons comparer nos résultats, tant hématologiques que biochimiques, qu'à ceux obtenus chez une espèce voisine : le lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus*), dont nous représentons les différents paramètres sanguins dans les tableaux n° 4 et 8.

De même, nous comparerons les deux électrophorégrammes (électrophorégramme d'un sérum de lapin : figure n° 2).

I - Hématologie.

Chez le lièvre, sur le plan hématologique, nous n'observons aucune différence nette entre les animaux de sexe opposé, tant dans la numération que dans la formule. Seule une légère élévation de la numération érythrocytaire des mâles par rapport aux femelles peut se remarquer mais elle nous semble n'être d'aucune valeur significative.

Par contre, nous relevons une très forte différence entre la numération érythrocytaire du lièvre et celle du lapin. Nos résultats font apparaître, chez le lièvre, un nombre de globules rouges deux fois plus grand que chez le lapin (d'après les résultats communiqués pour ce dernier par la littérature).

En ce qui concerne les autres valeurs hématologiques, nous pouvons dire qu'elles sont sensiblement les mêmes chez le lièvre et chez le lapin. Quelques différences minimales peuvent néanmoins être relevées dans la formule leucocytaire : chez le lapin, les pourcentages en neutrophiles et lymphocytes sont légèrement supérieurs à ceux du lièvre.

II - Biochimie.

Sur ce plan, de nombreuses valeurs sont semblables chez les deux espèces.

Les taux d'ions sodium, potassium, magnésium et calcium sont du même ordre, ainsi que la protéinémie, chez le lièvre et chez le lapin.

La glycémie du lièvre est élevée comme chez le lapin. (cette hyperglycémie du lièvre fait l'objet d'un chapitre particulier).

Le taux d'urée sanguine est, par contre, plus élevé chez le lièvre que chez le lapin, mais ceci n'a pas de valeur significative, les méthodes de dosage étant ici différentes chez les deux espèces.

Le profil électrophorétique n'est pas semblable pour les deux espèces animales puisque l'importance relative des fractions protéiques est différente. (On retrouve des pics globuliniques de même nature : α_1 , α_2 , β , γ).

Chez le lièvre, nous remarquons le très grand pic des albumines.

Chez le lièvre, l'écart des valeurs extrêmes des transaminases est assez important. Nous ne ferons pas de comparaison avec le lapin, n'ayant trouvé, sur ce sujet, aucune référence bibliographique pour ce dernier.

Q u a t r i è m e P a r t i e

E T U D E P A R T I C U L I E R E

Influence du stress sur la glycémie du lièvre.

C h a p i t r e P r e m i e r

INFLUENCE DU STRESS SUR LA GLYCEMIE

Au début de notre expérimentation, nous remarquons une glycémie qui semble élevée chez certains lièvres. Parmi ces animaux à glycémie élevée, de nombreux mourront quelques jours plus tard. Ce qui nous amène à penser que les divers et nombreux stress auxquels ont été soumis les animaux pendant leur voyage, peuvent être à l'origine de cette glycémie élevée. (Nous n'avons pas trouvé, dans la littérature, la valeur de la glycémie normale chez le lièvre).

Dans un premier temps, nous nous appliquons donc à déterminer les valeurs normales des paramètres biochimiques sanguins des lièvres reçus, puis dans un deuxième temps nous essayons d'évaluer l'influence du stress sur la glycémie. Enfin dans un troisième temps, nous dosons la glycémie de ces animaux soumis à l'action pharmacodynamique de tranquillisant.

1. Expérience.

Chez le lièvre.

Cette expérience ne porte que sur 10 lièvres :

. Lièvres au repos dans leur cage :

Glycémie moyenne : 1,33 g/l.

. lièvres soumis à des stress sonores :

Avec prise de sang immédiate (5 lièvres) :

Glycémie moyenne : 1,49 g/l.

Avec prise de sang 2 heures après le stress (5 lièvres) :

Glycémie moyenne : 1,16 g/l.

. Mêmes lièvres laissés au repos pendant 2 jours :

Glycémie moyenne : 1,13 g/l.

Remarque : au bout de 3 jours, 6 lièvres sont morts.

Chez le lapin.

Pour avoir des points de comparaison, nous tentons les mêmes expériences chez le lapin :

. Lapins au repos (10 lièvres) :

Glycémie moyenne : 1,15 g/l.

. Lapins soumis à des stress :

Glycémie moyenne : 1,37 g/l.

. Lapins de nouveau au repos :

Glycémie moyenne : 1,10 g/l.

2. Conclusion.

Nous remarquons que la glycémie des lièvres ayant été soumis à un stress s'élève assez fortement pour retomber progressivement dans le temps jusqu'à atteindre 0,54 g/l chez certains sujets juste avant de mourir.

Nous pouvons faire la même remarque chez le lapin.

Le stress semble donc avoir une action hyperglycémiant nette, plus marquée chez le lièvre qui supporte mal la captivité et ces expériences. Cette hyperglycémie initiale est ensuite suivie d'une chute de la glycémie qui semble plus marquée chez les animaux qui mourront à la suite de l'expérience.

C h a p i t r e D e u x i è m e

ESSAI D'EMPLOI DE TRANQUILLISANT

Nous essayons, ici, de voir quel rôle peut jouer un tranquillisant (Valium N.D., Laboratoire Roche : Diazepam) sur la glycémie de 8 lièvres (dont nous connaissons la glycémie moyenne au repos).

I - Expérience.

Nous injectons, à chaque animal, en intramusculaire, 0,7 ml de Valium (correspondant à 10 mg de Valium par lièvre).

Les prélèvements sanguins, pour doser la glycémie, sont faits 30 minutes, puis 1 heure après l'injection.

Les résultats sont les suivants :

. Lièvres au repos : glycémie moyenne : 1,42 g/l.

. Après injection :

Au bout de 30 minutes : glycémie moyenne :
1,64 g/l ;

Au bout de 60 minutes : glycémie moyenne :
1,50 g/l.

II - Conclusion.

Nous remarquons donc, après l'injection de tranquillisant, une hyperglycémie qui tend à décroître au cours du temps.

L'action hyperglycémiant des tranquillisants constatée également chez le lapin (23) pourrait constituer un élément de protection contre le stress et notamment contre l'effondrement post-réactionnel de la glycémie chez les animaux moins résistants à l'agression.

Les essais préliminaires portant sur un trop petit nombre d'animaux mériteraient d'être réalisés sur une plus grande échelle pour une meilleure compréhension des phénomènes de résistance au stress et des moyens éventuellement à mettre en oeuvre pour la renforcer.

CONCLUSION

CONCLUSIONS

Le lièvre commun (*Lepus europaeus*) est une espèce de gibier se raréfiant en France. L'écologie et la biologie du lièvre en font un animal assez particulier et l'échec du repeuplement (à partir d'animaux importés d'Europe de l'Est) a provoqué l'intérêt de certains pour son élevage.

C'est alors que de nombreux problèmes (la mortalité surtout) nous ont incité à réaliser une étude visant à une connaissance plus complète de la biologie de cet animal.

Ainsi, les analyses pratiquées sur un total de soixante six lièvres pendant deux années consécutives, nous a permis la détermination des valeurs moyennes de leurs principaux paramètres hématologiques et biochimiques. Les valeurs normales ainsi obtenues sont susceptibles d'apporter des éléments intéressants pour le contrôle de l'état sanitaire des centres d'expérimentation et des élevages. Elles devraient permettre également d'affiner les diagnostics dans le cadre de l'identification des affections en cause et devraient, de ce fait, aider à adapter les thérapeutiques pour une efficacité maximale. Une étude plus approfondie des variations des fractions protéiques et de leur tracé peut être aussi utile en pathologie parasitaire et infectieuse.

sur leur } Enfin, un travail plus complet doit être maintenant entrepris sur les effets du stress vis-à-vis de l'équilibre glycemique et des facteurs en cause., prévention et l'augmentation de la résistance des lièvres à l'agression stressante par l'emploi éventuel des tranquillisants.

Vu :

LE DIRECTEUR

de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon.

LE PROFESSEUR RESPONSABLE

de l'École Nationale Vétérinaire,



Vu :

~~LE DOYEN,~~

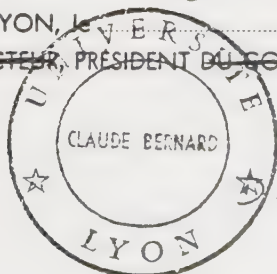
LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,



Vu et permis d'imprimer

18 FEV. 1977

LYON, LE 19
LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ LYON I



GERMAIN

B I B L I O G R A P H I E

B I B L I O G R A P H I E

1. ALLEN (N.C.) et WATSON (D.F.) - 1968 in KANEKO (J.J.) et CORNELIUS (C.E.) - 1970, Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Academic Press New-York and London.
2. ANDRZEJEWSKI (P.) et PUZEK (Z.) - Studies on the European Hare. Acta theriologica X 5, Bialowieza, 1965.
3. DELEFORTRIE (P.) et HAQUIN (R.) - L'élevage du lièvre de repeuplement en captivité étroite. Mémoire fin d'études. Institut Supérieur d'Agriculture, Lille, 1973.
4. DITTMER (D.A.) - 1961 in CORNELIUS (C.E.) et KANEKO (J.J.) 1963, Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Academic Press, New-York and London.
5. EVELETH (D.F.) - 1937 in KANEKO (J.J.) et CORNELIUS (C.E.) 1970, Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Academic Press, New-York and London.
6. FLAVEN (P.) - Contribution à l'étude de la biologie et de l'Elevage du Lièvre commun dans l'économie cynégétique. Thèse Vétérinaire, Lyon, 1969.
7. FRAGUGLION (D.) - L'élevage du lièvre commun. Plaisirs de la chasse, n° 87, 88, 89, Paris, 1959.
8. GUITARD (P.) - Repeuplement des chasses françaises en lièvres d'importation, essai d'une prophylaxie. Thèse Vétérinaire Toulouse, 1971.
9. GRZIMEK (B.) - Le Monde Animal. Tome XII. Edition Stauffacher, S.A. Zurich.

10. HUDGINS (P.C.) et al. - 1956 in KANEKO (J.J.) et CORNELIUS (C.E.) - 1970, Clinical Biochemistry of Domestic Animals.
Academic Press, New-York and London.
11. JOUBERT (L.), DESCHANEL (J.P.) et GASTELU (J.) - Fécondité et pathologie du lièvre d'importation en France.
Organe mensuel des Ecoles Vétérinaires, Lyon et Toulouse, octobre 1971.
12. LEBRETTE (B.) - Fécondité et Pathologie du Lièvre d'importation en France.
Thèse Vétérinaire, Lyon, 1972.
13. LESBOUYRIES (G.) - Pathologie du Lièvre.
Edition Maloine, Paris, 1963.
14. MACKLIN (W.), KOZMA (C.), CUMMINS (L.M.) et MAUER (R.) - The biology of the laboratory rabbit.p. 60-69.
Edited par Steven H. Weisbroth, Ronald E. Flatt, Allan L. Kraus.
Academic Press, New-York and London, 1974.
15. MARTINET et RAYMONS - Mécanisme possible de la superfœtation chez la hase.
C.R. Académie Scientifique de Paris, 1973, 274, 2683-2686.
16. MONTET (P.) - L'élevage du Lièvre.
Numéro hors-série des sections avicoles.
17. MORIN (J.C.), LAFITTE (E.) - Pathologie du lièvre.
Revue "Vétérinaire Français", n° 2, 1973.
18. MOUTHON (G.), LAPRAS (M.), RICHARD (Y.), OUABDESSELAM (M.), OUDAR (J.) - Etude de quelques paramètres biochimiques sanguins chez le lièvre (*Lepus europaeus*).
Bull. Soc. Sci. Vet. Med. Comp., lyon, 1976, n° 4.
19. NICOLAS (E.) et BRION (A.) - Vade-Mecum du Vétérinaire, p. 785-790, 9e édition, Vigot Frères éditeurs, 1952.
20. NOVAKOVA (E.) - Utilisation de l'hémogramme du lièvre commun comme indicateur des altérations anthropogènes du paysage
Journal Forestier Suisse n° 1, p. 31-34, janvier 1968.

21. NOVAKOVA (E.) et PUJMAN (V.) - Contribution préliminaire à la connaissance des déviations saisonnières dans certains éléments du sang et de la moëlle osseuse chez le lièvre commun. Scientia Agriculturae, Bohemoslovaca, 1970, p. 169-173.
22. RAILLET (A.) - Traité de zoologie médicale. Asselin et Houzeau, p. 283-447, Paris, 1885.
23. REVOL (M.L.) et MIACHON (S.) - Action de quelques drogues psychotropes sur la glycémie du lapin. Société de Pharmacie de Lyon, 1963, Séance du 28 janvier.
24. REMLINGER (P.) et BAILLY (J.) - Blood urea in rabbits in the dog and rabbit. C.R. Soc. Biol., Paris, 1937, 125, p. 220-222.
25. RULLIER (J.) et PARODI (A.) - Laboratoire et diagnostic en Médecine Vétérinaire. p. 120-300, Vigot Frères Ed., Paris, 1968.
26. SCHALM (W.O.) - Veterinary Hematology. London, Baillière, Tindall et Cox, 1961, p. 200-211.
27. VAISSAIRE (J.), LABADIE (J.P.), RENAULT (L.) et MAIRE (Cl.) - Electrophorèse des protéines sériques chez le lapin normal. Laboratoire Vétérinaire Sanders, 1976. Rev. Med. Vet., 1976, 152, 249-253.
28. WEINER (H.E.) - 1954 in KANEKO (J.J.) et CORNELIUS (C.E.) 1970, Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Academic Press, New-York and London.

T A B L E D E S M A T I E R E S

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : <u>Généralités</u>	3
Chapitre I : Systématique et Anatomie descriptive du lièvre	4
I - Caractères zoologiques	4
II - Morphologie	5
III - Mensurations	6
IV - Pelage et mue	6
Chapitre II : Biologie du lièvre	7
I - Mode de vie du lièvre	7
II - La reproduction du lièvre	8
III - Biotope et territoire	8
Chapitre III : Elevage du lièvre	10
I - Conditions générales de l'élevage du lièvre commun	10
II - Différents types d'élevage	11
III - Conclusion	11
Chapitre IV : Situation cinégétique du lièvre en France. Problèmes de l'importation du lièvre	13
DEUXIEME PARTIE : <u>Protocole d'étude</u>	14
Chapitre I : Les animaux et les prélèvements biologiques	15
I - Les animaux	15
II - Les prélèvements	15
Chapitre II : Principes et méthodes	17
I - Hématologie	17
II - Biochimie	19

TROISIEME PARTIE : <u>Résultats d'analyses biologiques</u>	32
Chapitre I : Résultats	33
Chapitre II : Discussion	44
I - Hématologie	44
II - Biochimie	45
QUATRIEME PARTIE : <u>Etude particulière. Influence du stress sur la glycémie du lièvre</u> . . .	46
Chapitre I : Influence du stress sur la glycémie	47
Chapitre II : Essai d'emploi de tranquillisants	49
I - Expérience	49
II - Conclusion	49
CONCLUSION	51
BIBLIOGRAPHIE	53

